



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DELL'INSUBRIA

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

VARESE

**Dipartimento di Scienze Biochimiche, sperimentali e cliniche
Dottorato di Ricerca in Fisiologia sperimentale e clinica – XXV Ciclo
Direttore Dipartimento: Prof. Francesco Pasquali
Direttore Dottorato: Prof.ssa Daniela Negrini**

RIDURRE L'AREA INFARTUALE NELLO STEMI A COSTO ZERO!

**Relatore:
Ill.ma Prof.ssa D. Negrini**

**Correlatore:
Chiar.mo Prof. J. A. Salerno-Uriarte**

**Tesi Sperimentale di Dottorato
Dott. ANTONIO MANTOVANI
Matr. n°703047**

ANNO ACCADEMICO 2011-2012

INDICE

• Abstract (inglese)	pag. 3
• Abstract	pag. 6
• Introduzione	pag. 9
• Obiettivo	pag. 12
• Metodi	pag. 14
• Analisi statistica	pag. 21
• Risultati	pag. 23
• Discussione	pag. 27
• Conclusioni	pag. 32
• Abbreviazioni	pag. 34
• Bibliografia	pag. 36

ABSTRACT (inglese)

ABSTRACT**HOW TO REDUCE INFARCT SIZE IN STEMI PATIENTS, COST-FREE!**

Background – Postconditioning, i.e. cycles of ischaemia and reperfusion following a prolonged ischaemic insult, applied either intracoronary (culprit lesion) or on a remote organ, is an effective way to reduce infarct size.

Objectives – The aim of this study was to compare 2 different methods in use to achieve cardiac postconditioning: myocardial and remote. Primary end point was the reduction in infarct size, measured by ST-segment deviation resolution and Troponin I (TnI) release curve; secondary end point was the improvement in cardiac ejection fraction evaluated by means of echocardiography at 3 months.

Methods – We enrolled 78 pts randomized in 3 arms as follow: A myocardial postconditioning (29 pts), B remote postconditioning (29 pts), C control group (20 pts). Measures of efficacy were: ST-segment deviation recovery and peak TnI during hospitalization, LVEF and LVWMSI evaluated at 3 months.

Results – No statistically significant differences were found between group A and B, in terms of full ST-segment deviation recovery and reduction of ST-segment deviation score (62% e 78±14% vs 55% e 78±14%, p=NS respectively) and peak TnI (130±41 vs 134±42, p=NS). The LVEF and LVWMSI differences did not achieve statistical significance (46±10% vs 47±9% b, p=NS; 51±9% vs 52±10% a, p=NS; 1.6±0.4 vs 1.6±0.4 b, p=NS; 1.3±0.3 vs 1.3±0.3 a, p=NS, group A and B respectively). All efficacy measurers were statistically significant different when both groups A and B were compared to group C.

Conclusions – This study shows that remote postconditioning is non-inferior to myocardial for the prevention of reperfusion injury, and is even a safer, easier to do and faster method (no procedural time prolonged).

Key words: ischaemia ▪ STEMI ▪ reperfusion ▪ postconditioning

ABSTRACT

ABSTRACT

Introduzione – Il postcondizionamento, applicando dopo ischemia prolungata cicli di ischemia e riperfusione, sia a livello della coronaria riaperta che di un organo remoto, è in grado di ridurre l'area infartuale.

Scopo - Confronto di efficacia tra le 2 metodiche di postcondizionamento attualmente applicate in letteratura, miocardico e remoto: end point primario la riduzione dell'area infartuale, valutata mediante risoluzione della deviazione del tratto ST e curva di dismissione di Troponina I (TnI); end point secondario il miglioramento della funzione contrattile valutata mediante ecocardiografia a 3 mesi.

Metodi – Sono stati arruolati 78 pz, randomizzati in 3 gruppi: A postcondizionamento miocardico (29 pz), B postcondizionamento remoto (29 pz), C controllo (20 pz). Le misure di efficacia considerate sono: risoluzione della deviazione del tratto ST e picco di TnI durante l'ospedalizzazione, FEVS e LVWMSI a 3 mesi.

Risultati – Non vi sono differenze statisticamente significative tra i gruppi A e B in termini di risoluzione, assoluta e percentuale, della deviazione del tratto ST (rispettivamente 62% e 78±14% vs 55% e 78±14%, p=NS) e di picco di TnI (130±41 vs 134±42, p=NS). Anche la differenza in termini di FEVS e LVWMSI non è risultata statisticamente significativa (rispettivamente 46±10% vs 47±9% pre, p=NS; 51±9% vs 52±10% post, p=NS; 1.6±0.4 vs 1.6±0.4 pre, p=NS; 1.3±0.3 vs 1.3±0.3 post, p=NS). Tutte le misure di efficacia considerate differiscono significativamente tra i gruppi A e B quando confrontati con il gruppo C.

Conclusioni – I dati dimostrano la non inferiorità del postcondizionamento remoto, più sicuro, facile da applicare e veloce (nessun allungamento dei tempi procedurali), rispetto al miocardico.

Parole chiave: ischemia ▪ STEMI ▪ riperfusione ▪ postcondizionamento

INTRODUZIONE

INTRODUZIONE

Nonostante i significativi progressi terapeutici, la cardiopatia ischemica, soprattutto nella forma di infarto miocardico acuto con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI), rappresenta un'importante causa di morte ed evoluzione in insufficienza cardiaca nei paesi sviluppati (1). Il maggiore determinante la prognosi dopo STEMI è la dimensione dell'area infartuale (2-4): 8% di area disfunzionante del ventricolo sinistro (VS) conduce a riduzione della compliance diastolica; 15% a riduzione della frazione d'eiezione, aumento del volume del VS e della pressione telediastolica; 25% a insufficienza cardiaca congestizia; 40% a shock cardiogeno (5, 6). Si crea un circolo vizioso per cui la riduzione del $\Delta P/\Delta t$ diminuisce la pressione di perfusione coronarica con conseguenti ulteriori aumenti dell'ischemia e dunque della disfunzione del VS (7). La riperfusione miocardica in acuto, come qualsiasi altra misura atta a ridurre l'area di necrosi, limita l'aumento di volume del VS dopo STEMI e migliora l'outcome a lungo termine (8-10). Per preservare quanto più miocardio possibile la migliore terapia è la riapertura meccanica del vaso coronarico occluso tramite doppia antiaggregazione piastrinica unita a intervento coronarico percutaneo (PCI) mediante angioplastica (PTCA) ed eventuale impianto di stent, medicato (DES) oppure metallico (BMS): tale metodica si è ampiamente dimostrata superiore alla fibrinolisi (11-15) e garantisce un flusso postprocedurale TIMI3 nel 93-98% dei casi (16, 17). Le strategie per ridurre l'area infartuale comprendono (18):

- Riperfusione precoce
- Riduzione della richiesta energetica del miocardio
- Manipolazione delle fonti di produzione energetica del miocardio
- Prevenzione del danno da riperfusione

I primi 3 punti prevedono terapie già rodiate, sia di tipo farmacologico (es betabloccanti, nitrati, antiaggreganti, eparina, bivalirudina) che di tipo meccanico (PCI). Per quanto concerne il danno da riperfusione, ovviamente non è possibile applicare il preconditionamento, che ha mostrato la sua efficacia nelle PCI elettive (19-23).

Zhao per primo ha descritto il fenomeno denominato “postcondizionamento” in un modello canino (24): brevi episodi di ischemia immediatamente all’inizio della riperfusione successiva ad un insulto ischemico prolungato. Il postcondizionamento è stato in seguito testato in vari disegni sperimentali con modelli animali e umani, dimostrando di poter ridurre l’area infartuale sino in misura del 40% (25-49).

OBIETTIVO

OBIETTIVO

L'obiettivo del presente studio è porre a confronto due modelli di postcondizionamento (già testati ognuno singolarmente in letteratura vs gruppo di controllo), miocardico (30, 34) e remoto (32), al fine di valutarne eventuali differenze in termini di riduzione dell'area infartuale nell'ambito di PCI primaria in corso di STEMI.

METODI

METODI

Lo studio è stato condotto in conformità alla Dichiarazione di Helsinki (sesta revisione, Seul 2008) e alle leggi dello Stato italiano. Tutti i pazienti hanno prestato consenso informato scritto.

Popolazione

Sono stati inclusi nello studio pazienti > 18 anni di età, di ambo i sessi.

Criteri di inclusione

- ♂/♀ > 18aa (clinico)
- Presentazione dall'insorgenza del dolore: < 6h (clinico)
- Dolore toracico di durata $\geq 30'$ (clinico)
- Sopraslivellamento del tratto ST > 0.1mV in almeno 2 derivazioni contigue (ecg)
- Indicazione a PCI primaria (clinico)
- Occlusione coronarica totale: flusso TIMI 0 (angiografico, fig1)
- Assenza di flusso collaterale: Rentrop ≤ 1 (angiografico, fig1)
- Successo procedurale: flusso TIMI post-PCI = 2/3 (angiografico, fig2)



Figura 1 IVA occlusa

Criteri di esclusione

- Coronaria culprit non occlusa: flusso TIMI ≥ 1 (angiografico)
- Presenza di circolo collaterale: Rentrop ≥ 2 (angiografico)
- Insuccesso procedurale: flusso TIMI post-PCI ≤ 1 (angiografico)
- Arresto cardiaco pre-PCI (clinico)
- Shock cardiogeno pre-PCI (clinico)
- Peggioramento IMA trasmurale con onda Q (ecg)
- Pregressa rivascolarizzazione miocardica chirurgica (clinico)
- Blocco di branca sinistra (ecg)

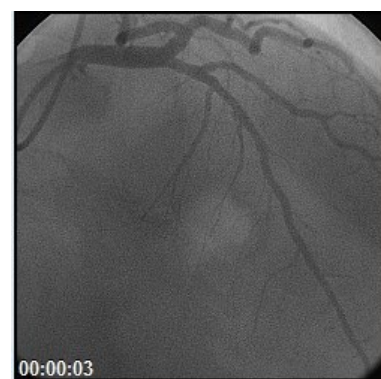


Figura 2 IVA post PCI

- Malattia multivasale con stenosi non culprit > 75% (angiografico)

Disegno sperimentale

Studio prospettico, multicentrico (HFBBF, IT; Bulgarian Cardiac Institute, BG), randomizzato, “in aperto”.

Angiografia coronarica e PCI

Tutti i pazienti vengono premedicati con:

- Acido acetilsalicilico 250 mg ev
- Clopidogrel 600 mg po; in alternativa Prasugrel 60 mg po

L'esame coronarografico viene effettuato mediante la tecnica di Seldinger con accesso arterioso radiale o femorale. L'agente di contrasto utilizzato, idrosolubile e a bassa osmolarità, è l'iomeprolo (Iomeron, Bracco Imaging Italia Srl). L'angiografia coronarica permette di individuare la lesione culprit e di accertare l'arruolabilità del soggetto nello studio. Viene effettuata la PCI a livello della lesione culprit; la scelta di cateteri, fili guida, palloni, tipo di stent (BMS o DES) e sue caratteristiche è lasciata al singolo operatore in accordo con la comune pratica del laboratorio.

Trattamento assegnato

Dopo aver fornito consenso informato, ed in seguito alla verifica dei criteri clinici ed angiografici di inclusione ed esclusione, i pazienti vengono randomizzati al braccio “postcondizionamento miocardico” o al braccio “postcondizionamento remoto” (fig 3). Lo studio è divenuto multicentrico in fase avanzata; il Bulgarian Cardiac Institute ha arruolato esclusivamente pazienti del terzo braccio di controllo (assenza di postcondizionamento).

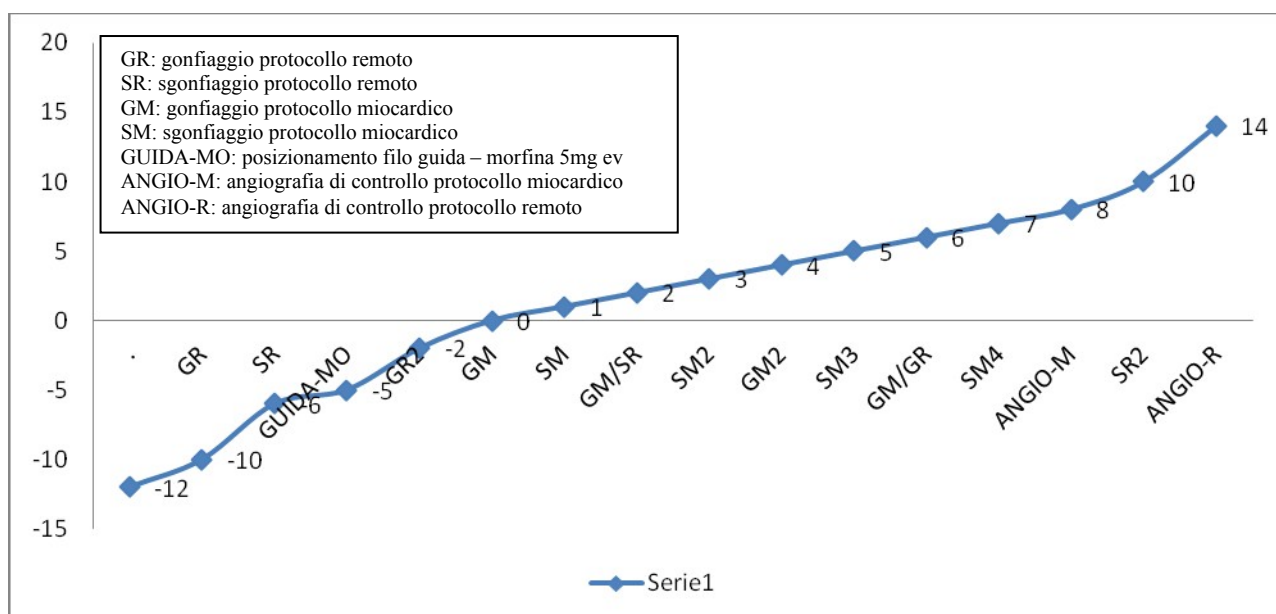


Figura 3 PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Postcondizionamento ischemico miocardico

Dopo il posizionamento del filo guida nel territorio a valle dell'ostruzione, vengono somministrati 5 mg di morfina in bolo ev. Si procede quindi alla dilatazione della lesione mediante pallone gonfiato per circa 20 secondi a 12-16 atm (\pm impianto di stent). Entro 1 minuto dall'inizio della riperfusione, il pallone utilizzato viene gonfiato immediatamente a monte del tratto dilatato (per prevenire possibili embolizzazioni o danneggiamenti dello stent da successive dilatazioni) a bassa pressione (4-6 atm) e successivamente sgonfiato per 4 cicli consecutivi (gonfiaggio: 1 minuto di ischemia – sgonfiaggio: 1 minuto di riperfusione). È stata scelta questa sequenza in quanto si è dimostrata efficace in studi animali e sull'uomo (30, 34, 50). Nel posizionare il pallone a monte della lesione viene posta attenzione a non ostruire un ramo collaterale. All'8° minuto si procede ad angiografia coronarica per valutare la pervietà dell'arteria e la perfusione miocardica. La procedura viene quindi ultimata secondo i giudizi clinici dell'operatore nel rispetto delle condizioni del paziente.

Postcondizionamento ischemico remoto

Il postcondizionamento remoto viene ottenuto applicando un manicotto per la pressione all'arto superiore sinistro del paziente, procedendo con 3 cicli di ischemia/riperfusione, rispettivamente gonfiando il manicotto per 4 minuti a 20 mmHg

al di sopra della pressione sistolica massima del paziente e successivamente sgonfiandolo per 4 minuti fino a 20 mmHg al di sotto della stessa. I cicli vengono fatti iniziare approssimativamente 10 minuti prima dell'inizio della ri-perfusione, ovvero prima del posizionamento del filo guida nel territorio a valle dell'ostruzione (32). Superata la lesione con il filo guida, vengono somministrati 5 mg di morfina in bolo ev. Si procede quindi alla dilatazione della lesione mediante pallone gonfiato per circa 20 secondi a 12-16 atm (\pm impianto di stent). Al termine della PCI e delle sequenze di ischemia-ri-perfusione si procede ad angiografia coronarica, per valutare la pervietà dell'arteria e la perfusione miocardica. La procedura viene quindi ultimata secondo i giudizi clinici dell'operatore nel rispetto delle condizioni del paziente.

Obiettivi

L'obiettivo principale dello studio è un confronto di efficacia tra le 2 metodiche di postcondizionamento attualmente applicate in letteratura, miocardico e remoto. End point primario è la riduzione dell'area infartuale, valutata mediante risoluzione della deviazione del tratto ST e curva di dismissione della Troponina I (TnI); end point secondario è il miglioramento della funzione contrattile valutata mediante ecocardiografia a 3 mesi.

Misure di efficacia

Lo studio valuta l'outcome dei pazienti utilizzando le metodiche comuni impiegate routinariamente nella pratica clinica quotidiana. La regressione del sopraslivellamento del tratto ST dopo ri-perfusione è un indice di preservata perfusione miocardica dopo STEMI (51-53) ed è correlata, unitamente al picco ospedaliero di TnI, all'outcome post-IMA. Sono pertanto legittimi indicatori surrogati di prognosi clinica (32); inoltre la curva della TnI è stata in precedenza validata come indicatore dell'estensione dell'area infartuale mediante metodica SPECT (34). L'ecocardiografia e il LVWMSI (punteggio di cinesi della parete del ventricolo sinistro) è già stata validata in un precedente studio sul postcondizionamento, rispetto alla SPECT, per la determinazione dell'area infartuale (34).

Ecg

Un elettrocardiogramma standard a 12 derivazioni (fig 4) viene registrato al momento dell'ingresso in ospedale, del ricovero in UTIC post-PCI e 30 minuti più tardi. La deviazione del tratto ST viene calcolata come la somma,

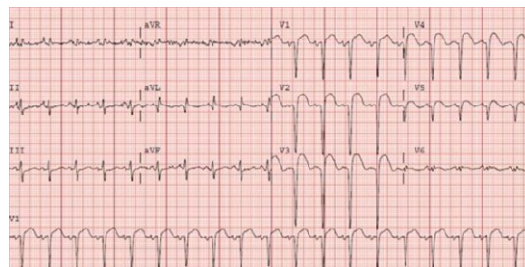


Figura 4 ECG: STEMI ANTERIORE

espressa in millimetri, della deviazione (sia sopra che sottoslivellamento) del tratto ST a 80 ms dal punto J in tutte le 12 derivazioni. La risoluzione della deviazione del tratto ST è calcolata come valore percentuale: rapporto tra la deviazione del tratto ST calcolata tra l'ingresso e l'avvenuta riperfusione sul valore ottenuto all'ingresso, moltiplicato 100% (i.e.: [(deviazione ST all'ingresso – deviazione ST postPCI)/(deviazione ST all'ingresso)*100%]. Si considera completa risoluzione della deviazione del tratto ST un valore $\geq 80\%$. Le misurazioni vengono effettuate da 2 cardiologi clinici, non a conoscenza del protocollo di postcondizionamento attuato, e viene utilizzato il valore medio tra le 2 misurazioni.

Markers

I livelli sierici di TnI sono misurati dal laboratorio ospedaliero che utilizza le analisi quantitative disponibili in commercio (Abbott, Illinois), tramite prelievi ematici venosi (tecnica standard) all'ingresso (tempo 0) e a intervalli regolari durante l'ospedalizzazione (6-12-18-24-36-48-60-72 ore). Tutti i prelievi così ottenuti sono stati analizzati entro 1 ora.

Ecocardiografia

L'esame ecocardiografico viene effettuato entro le 24 ore dall'ingresso del paziente in ospedale e successivamente a 3 mesi. I due ecocardiografisti del laboratorio sono ciechi nei riguardi della modalità di postcondizionamento attuata.

Il protocollo dello studio, articolato in modo tale da non deviare da quanto viene già effettuato nella comune pratica clinica di follow-up (FU) del paziente coronaropatico, prevede in seguito controlli ecocardiografici annuali, consentendo un'espansione del periodo di FU. I dati di tutti i pazienti che afferiscono al nostro laboratorio di ecocardiografia vengono raccolti nel server centrale dell'ospedale

(Priamo), quindi facilmente recuperabili in qualsiasi momento. La centralizzazione dei dati, unita allo stretto follow-up clinico-strumentale che vede coinvolti tutti i pazienti da noi ospedalizzati (non solo dunque i pazienti del presente studio clinico) presso i nostri ambulatori divisionali, consente un bassissimo numero di pazienti persi al FU.

I pazienti vengono esaminati in decubito laterale sinistro dalle finestre apicale e parasternale standard utilizzando apparecchio Acuson Sequoia C512 (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany). I volumi e la frazione d'eiezione del VS vengono misurati mediante calcolo Simpson biplano (54). Per la valutazione della cinetica regionale, il VS è suddiviso in un modello a 16 segmenti in accordo con quanto indicato dalla società americana di Ecocardiografia (54). Per ogni segmento, viene assegnato un punteggio di motilità: 1 normale; 2 ipocinetico; 3 acinetico; 4 discinetico, e quindi ricavato il LVWMSI (= somma dei punteggi ottenuti dai 16 segmenti /16).

È già stato dimostrato dal gruppo di Ovize (34), mediante studio scintigrafico (Tallio 201) a 6 mesi ed ecocardiografico a 1 anno, che il postcondizionamento non si limita a ritardare, bensì riduce il danno letale da riperfusione, e che le aree di deficit perfusorio alla scintigrafia basale corrispondono a danno miocardico irreversibile (assenza di pazienti con ischemia ricorrente) e non ad aree di miocardio ibernato. L'uso della scintigrafia ha così validato il LVWMSI, che nello studio citato viene effettuato a 12 mesi in quando il rimodellamento del ventricolo sinistro è più lento della guarigione dell'area infartuale. Inoltre lo stunning del miocardio vitale perinfartuale necessita tempo per ridursi e risolversi, rivelando così un miglioramento della funzione contrattile globale del miocardio dovuta a diminuzione dell'effetto tethering da riduzione del tessuto infartuale (55, 56). A 3 mesi è comunque già possibile valutare miglioramenti iniziali, pertanto si è scelto di introdurre questa prima ecografia nello studio; come già detto i pazienti vengono costantemente seguiti in FU dai nostri ambulatori, permettendo così di arricchire i dati iniziali con ulteriori osservazioni su un periodo di tempo maggiore. Inoltre nel corso del FU, grazie alle periodiche visite ambulatoriali, sarà possibile completare la valutazione clinica del paziente mediante l'evoluzione della classe NYHA e l'eventuale progressione verso lo scompenso cardiaco, superando così il limite dell'utilizzo di end-point surrogati (35).

ANALISI STATISTICA

ANALISI STATISTICA

Numerosità campionaria

Il calcolo della numerosità campionaria è stato effettuato in relazione all'end point primario, cioè la valutazione della dimensione dell'area infartuale mediante studio del tratto ST all'elettrocardiogramma ed analisi delle curve di dismissione di TnI. Con un'ipotesi a due code di differenze del 10% nella riduzione dell'area infartuale tra le due metodiche, fissando la potenza dello studio all'80% ($\beta = 0.20$) e il livello di significatività al 5% ($\alpha = 0.05$), la numerosità campionaria richiesta è pari a 72 soggetti.

Protocollo di randomizzazione

I pazienti sono stati randomizzati utilizzando un generatore di numeri casuali disponibile online, a cura del Servizio Sviluppo Applicazioni Informatiche della regione Emilia-Romagna (http://www.regione.emilia-romagna.it/sin_info/generatore/), attribuendo a 1 il protocollo miocardico e a 2 il protocollo remoto. L'elenco di numeri casuali così ottenuto è affisso nel laboratorio di emodinamica, e i pazienti arruolabili vengono progressivamente, con lo scorrere della lista, assegnati ad uno dei due bracci dello studio. Il braccio di controllo è stato selezionato a posteriori.

Analisi statistica

I dati vengono presentati come media \pm deviazione standard. L'analisi delle variabili continue (dismissione di TnI, tempo di ischemia, frazione d'eiezione del VS, LVWMSI) è stata effettuata mediante il test t di Student. Le variabili categoriche sono state esaminate mediante il test esatto di Fisher. La significatività statistica viene raggiunta ad un valore di $P < 0.05$ (test a 2 code). Le analisi sono state effettuate mediante software Excel (Microsoft Office 2007; Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).

RISULTATI

RISULTATI

Dal gennaio 2010 al settembre 2012 sono stati arruolati 58 pazienti (A+B) su un totale di 184 STEMI trattati mediante PCI e afferiti all'HFBF (ca 35% del totale dei pazienti con IMA sopra-ST). Tutti i soggetti sono stati trattati secondo il protocollo determinato dalla randomizzazione; 29 pazienti sono stati arruolati nel gruppo A: postcondizionamento miocardico, 29 nel gruppo B: postcondizionamento remoto. Il gruppo C è stato arruolato esclusivamente presso il Bulgarian Cardiac institute.

78pts	A (29pts)	B (29pts)	C (20pts)	P VALUE
AGE	68±9	65±12	64±17	NS
MALE	17(59%)	18(62%)	13(65%)	NS
SMOOKING	16(55%)	12(41%)	8(40%)	NS
HTN	17(59%)	17(59%)	13(65%)	NS
DISLIPIDEMIA	13(45%)	13(45%)	11(55%)	NS
DIABETES	9(31%)	7(24%)	6(30%)	NS
RENAL FAILURE	1(3%)	1(3%)	2(10%)	NS
KNOWN CAD	8(28%)	8(28%)	8(40%)	NS
PAIN TO PCI	214±45	218±43	220±39	NS
LVEF	46±10	47±9	48±10	NS
*ST DEV.	20±6	21±6	19±5	NS

Tabella 1 Dati di popolazione

Popolazione studiata

Non vi sono differenze statisticamente significative tra i 3 gruppi di pazienti riguardo le caratteristiche demografiche generali, i parametri vitali all'ingresso, il tempo di ischemia pre-PCI, i segni ecggrafici di ischemia. La FEVS, il LVWMSI e la regione culprit (coronaria occlusa) sono paragonabili. Alla dimissione è stato prescritto a tutti i pazienti un trattamento farmacologico simile. I dati sono presentati nelle tabelle 1 e 2.

Trattamento

La PCI ha consentito il ripristino di un flusso TIMI ≥ 2 in tutti i pazienti. Tutti hanno ricevuto l'impianto di stent, senza che si siano verificati eventi avversi, tranne in 1 caso (il 19° paziente arruolato), in cui dopo l'impianto di stent si è verificata dissezione di tipo B nel tratto coronarico a valle, tratta con successo mediante impianto di un ulteriore stent in overlapping con il precedente. Il paziente in questione è uscito dallo studio poiché lo schema di ischemia-riperfusion miocardica cui era stato randomizzato non è stato iniziato entro 1 minuto dall'avvenuta riperfusion, tempo oltre

il quale il protocollo di postcondizionamento perde efficacia (30, 32-34, 57). I dati sono

presentati nella tabella 2.

	GROUP A	GROUP B	GROUP C	P VALUE
LAD/LCX/RCA	8/12/9	8/8/13	7/5/8	NS
TIMI PRE	0(100%)	0(100%)	0(100%)	NS
TIMI POST	3(26); 2(3)	3(26); 2(3)	3(17); 2(3)	NS
DES/BMS	17/12	12/17	9/11	NS
HEPARIN	100%	100%	100%	NS
ANTI IIB/IIIA	100%	100%	100%	NS
MORPHINE	100%	100%	100%	NS
TREATMENT AT DISCHARGE				
ANTIPLT	100%	100%	100%	NS
β-BLOCKERS	100%	100%	100%	NS
ACEi/ARB	100%	100%	100%	NS
STATINS	100%	100%	100%	NS
DIURETICS	20%(4)	10%(3)	25%(5)	NS
NITRATES	10%(2)	3%(1)	5%(1)	NS

Tabella 2 Dati angiografici e terapia

Misure di efficacia

	GROUP A	GROUP B	P VALUE	GROUP C	P VALUE
*ST RECOVERY	18(62%)	16(55%)	NS	5(25%)	<0.05
*ST %	78±14	78±14	NS	69±19	<0.05
TnI PEAK	130±41	134±42	NS	181±50	<0.05
LVEF PRE	45±9	47±9	NS	47±10	<0.05
LVEF POST	51±9	52±10	NS	46±8	<0.05
LVWMSI PRE	1.6±0.4	1.6±0.4	NS	1.6±0.4	<0.05
LVWMSI POST	1.3±0.2	1.3±0.3	NS	1.6±0.4	<0.05

Tabella 3 Misure di efficacia

I dati sono riassunti nella tabella 3.

Ecg

Confrontando sia la piena risoluzione della deviazione del tratto ST (secondo i criteri già espressi) che i numeri percentuali (rispettivamente 62% e 78±14% gruppo A vs 55% e 78±14% gruppo B) non si repertano differenze statisticamente significative tra i gruppi

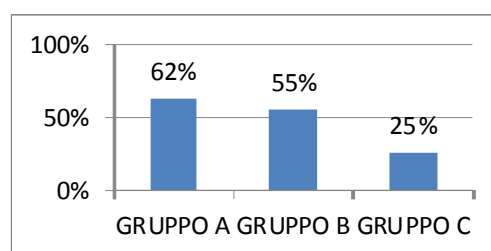


Figura 5 COMPLETA RISOLUZIONE TRATTO ST

A e B, né è possibile individuare tendenze nel comportamento del tratto ST in favore di uno dei 2 protocolli. Significativa invece la riduzione del sopraslivellamento del tratto ST rispetto ai controlli (fig 5).

Markers

Il picco di TnI (fig 6) è confrontabile tra i gruppi esaminati (130 ± 41 gruppo A vs

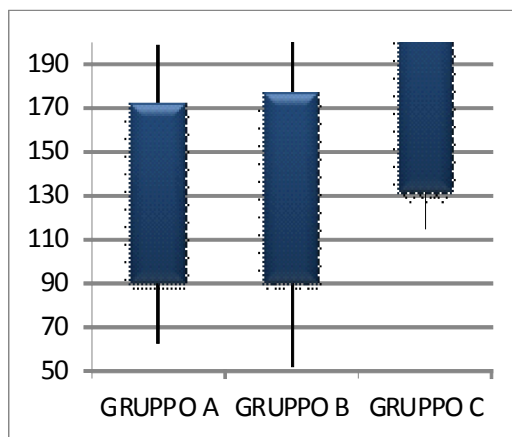
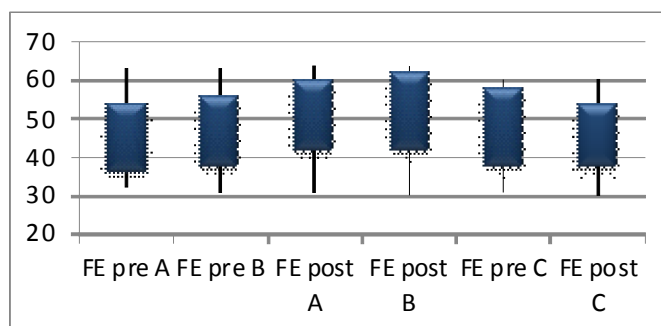


Figura 6 PICCO TnI nei soggetti arruolati nel gruppo postcondizionamento.

134 ± 42 gruppo B; $p=0.4$), mentre differisce significativamente nel braccio di controllo. I valori riscontrati nello studio presente risultano paragonabili a quanto riportato in letteratura (30, 32-34) in studi di confronto di un singolo protocollo di postcondizionamento vs gruppo di controllo, in cui si evidenzia una netta riduzione dell'area infartuale

Ecocardiografia

L'esame, effettuato a 3 mesi dalla PCI, non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i gruppi A e B in termini sia di FEVS ($51 \pm 9\%$ gruppo A vs $52 \pm 10\%$ gruppo B; $p=NS$) che di LVWMSI (1.3 ± 0.3



gruppo A vs 1.3 ± 0.3 gruppo B; $p=NS$), [Figura 7 FEVS pre e post](#)

mentre il confronto all'interno dello stesso gruppo tra valori pre e post-PCI e rispetto ai controlli documenta un incremento statisticamente significativo della funzione contrattile globale del VS ($46 \pm 10\%$ vs $51 \pm 9\%$ gruppo A; $47 \pm 9\%$ vs $52 \pm 10\%$ gruppo B) (fig 7) con una riduzione dell'indice di disfunzione della cinetica regionale (1.6 ± 0.4 vs 1.3 ± 0.3 gruppo A; 1.6 ± 0.3 vs 1.3 ± 0.3 gruppo B). Si segnala che i parametri frequenza cardiaca e pressione arteriosa, misurati il giorno di effettuazione dell'esame ecocardiografico, sono risultati sovrapponibili nei 3 gruppi.

DISCUSSIONE

DISCUSSIONE

La riperfusione dopo un prolungato periodo di ischemia danneggia il miocardio attraverso il danno da riperfusione (58). Le caratteristiche principali che lo identificano sono le seguenti (18, 59-63):

- Necrosi di cellule ancora vitali al momento del ripristino del flusso sanguigno (agenti ossidanti, disomeostasi del Ca^{++} con danno alle strutture cellulari, deplezione di adenina e ATP, accumulo di fosfati inorganici)
- Danno del microcircolo (adesione ed infiltrazione dei neutrofili, danno endoteliale ed edema) con espansione dell'area di no reflow e perdita della riserva di vasodilatazione coronarica
- Stunning miocardico
- Aritmie da riperfusione

Tra i principali protagonisti del danno da riperfusione vi sono i pori di transizione di permeabilità dei mitocondri (mPTP) (63). La loro apertura non avviene nella fase di ischemia, bensì è stata dimostrata iniziare nei primi minuti di riperfusione dopo ischemia prolungata (in uno studio sperimentale entro 5 minuti di riperfusione dopo 30 minuti di ischemia nel cuore isolato di topo) (64). L'apertura dei mPTP, portando a rigonfiamento dei mitocondri da sovraccarico di Ca^{++} , può condurre a necrosi la cellula (35, 37, 38, 44, 45, 48).

Tali meccanismi si associano a rimodellamento sfavorevole del VS, insufficienza cardiaca e ridotta sopravvivenza (65-67). Per contro il postcondizionamento ischemico è associato ad un incremento della funzione del VS a lungo termine dopo STEMI, con miglioramento della prognosi, grazie ad una riduzione dell'area infartuale (24-50, 56, 57, 63), ad un miglioramento della riserva di flusso coronarica e della funzione endoteliale (36, 38, 41).

La prima osservazione che il danno da riperfusione può essere modificato iniziando una lenta e cauta riperfusione è avvenuta in ambito cardochirurgico (68), dando il via allo studio del postcondizionamento.

Tra i meccanismi di miocardio-protezione attraverso cui agisce il postcondizionamento vi sono (25-27, 35, 37, 38, 44, 45, 48, 50):

- ✓ Attivazione della via di salvataggio delle kinasi
- ✓ Attivazione dei recettori accoppiati a proteina G, con fosforilazione della sintasi endoteliale dell'ossido nitrico ed inibizione dei promotori dell'apoptosi
- ✓ Inibizione dell'apertura dei mPTP
- ✓ Effetti antiinfiammatori e antiossidanti
- ✓ Mantenimento dell'acidosi

Una riperfusione graduale ed intermittente, piuttosto che immediata, dopo un periodo prolungato di ischemia è quindi in grado di ridurre gli effetti nefasti del danno da ischemia-riperfusione. Gli studi presenti in letteratura, oltre a dimostrarne i benefici effetti, sono stati mirati ad individuare il protocollo più efficace di postcondizionamento: ad es. Ovize ha applicato un tempo di ischemia-riperfusione di 1 minuto ciascuno (30), in accordo con i dati di Zhao (43) e Lin (46) (nei loro studi hanno confrontato protocolli di 30 secondi e 60 secondi, documentando una maggior efficacia di quest'ultimo protocollo) ed in contrasto con Lønborg (47) (che utilizza un tempo di ischemia-riperfusione di 30 secondi), mentre Darling ha dimostrato la superiorità di un numero di cicli di postcondizionamento miocardico ≥ 4 rispetto a ≤ 3 (31); il postcondizionamento remoto è stato studiato da Rentoukas (32), su dati sperimentali animali di Andreka (69).

Lo studio da noi iniziato all'HFBF è dunque supportato dall'evidenza in letteratura dell'importanza di contrastare il danno da ischemia-riperfusione e segue un filone già intrapreso da altri importanti Autori.

Il nostro studio confronta direttamente 2 protocolli terapeutici che hanno già provato, seppure con piccoli numeri e FU limitato, la loro efficacia nel ridurre l'area infartuale vs assenza di trattamento. Non esiste ancora evidenza di quale possa essere il protocollo di postcondizionamento più efficace, sia riguardo al ciclaggio (in letteratura tempi di ischemia-riperfusione di 30 secondi oppure 1 minuto nel protocollo miocardico, con numero di cicli ≥ 4) che alla modalità (miocardico vs remoto) (30, 31, 32, 34, 36, 39, 40, 43, 46, 47, 49). L'esistenza di differenti protocolli da un lato parrebbe indicare la robustezza della protezione miocardica fornita dal postcondizionamento, poiché protocolli differenti risultano efficaci nella medesima

specie, ma dall'altro causa scarsa riproducibilità e confrontabilità tra i differenti studi (45). Nel nostro studio abbiamo deciso di utilizzare lo stesso protocollo miocardico di Ovize in quanto già ben documentato e validato anche con scintigrafia a 6 mesi ed ecocardiografia a 12 mesi (30, 34), mentre il protocollo remoto è lo stesso del gruppo di Atene (32).

Le popolazioni campionarie confrontate sono paragonabili per i dati di base e quelli angiografici (tabelle 1 e 2). All'analisi statistica non appaiono differenze significative tra i marcatori di efficacia, né differenze in termini di eventi avversi o complicanze intraprocedurali; tali differenze risultano statisticamente significative quando confrontate con il gruppo di controllo.

Appare dunque giustificato inferire la non inferiorità in termini di efficacia, e dunque di prognosi, del protocollo remoto vs miocardico, ponendo così le basi per l'utilizzo estensivo del primo, scevro da qualsiasi tipo di complicanza coronarica (nonostante il buon profilo di sicurezza del miocardico) e applicabile senza allungamento alcuno dei tempi procedurali (non richiede cateteri in sede né controllo angiografico).

Limiti dello studio

Si tratta di un studio inizialmente monocentrico (gruppi A e B arruolati c/o HFBF) in cui il gruppo di controllo è costituito da pz afferenti da una diversa struttura, con dunque i possibili bias del caso nonostante la standardizzazione del protocollo. Le caratteristiche basali e angiografiche della popolazione arruolata siano sovrapponibili a quelle dei grandi trials randomizzati di pazienti STEMI sottoposti a PCI (70-73). Il sample size target, nonostante superiore a quello degli studi attualmente presenti in letteratura, è comunque ancora limitato; inoltre il FU andrebbe condotto a 3-5 anni per documentare una stabilità nel tempo dei risultati ottenuti e l'evoluzione clinica dei pazienti (35). Sarà comunque possibile in futuro integrare i dati del presente studio con un FU più strettamente clinico (MACE/evoluzione verso lo scompenso cardiaco), in considerazione dell'organizzazione dei nostri ambulatori, che garantiscono un costante e puntuale FU di tutti i pazienti seguito presso il nostro Centro. I 2 protocolli a confronto appaiono, dai dati presenti in letteratura (30-32, 34), essere i più efficaci, ma mancano grandi trials in proposito, e tale bias potrebbe inficiare la validità del

protocollo di studio in corso. Nell'analisi dei marcatori di efficacia manca una valutazione del "blush grade" e del "TIMI frame count", ottimi indici di riperfusione miocardica e correlati alla prognosi a lungo termine nello STEMI (74, 75); tali dati sono comunque stati documentati e pertanto disponibili per analisi future. Inoltre lo studio non ha potenza sufficiente per valutare una possibile interazione tra modalità di trattamento e localizzazione della lesione culprit.

Non vengono utilizzati end point clinici (MACE/morte), ma come già espresso il picco di TnI e la deviazione del tratto ST, in quanto correlati alla prognosi post-IMA, rappresentano dei buoni surrogati.

CONCLUSIONI

CONCLUSIONI

È necessaria la validazione definitiva di uno studio multicentrico randomizzato che arruoli un numero significativo di pazienti con un FU a medio termine di 3-5 anni, ma allo stato attuale ci sembra congruo con i dati preliminari disponibili l'obbligo di attuare una forma di postcondizionamento (sia essa miocardica o remota, in attesa dell'identificazione del protocollo più efficace) per tutti i pazienti.

Estendere la pratica del postcondizionamento ad un uso routinario nello STEMI, quale tempo fondamentale della PCI primaria, avrebbe infatti un forte impatto sulla prognosi e sulla qualità di vita dei pazienti; si tratta di una procedura semplice e sicura, non impegnativa né in termini di tempo né in termini economici di mezzi e risorse, un'arma in più nella lotta contro la cardiopatia ischemica e l'insufficienza cardiaca cronica su base ischemica.

ABBREVIAZIONI

ABBREVIAZIONI

atm: atmosfere

BMS: stent non medicato, metallico

DES: stent medicato

ev: endovena

FE: frazione d'eiezione

HFBF: Ospedale "Sacra Famiglia" dei Fatebenefratelli

IMA: infarto miocardico acuto

LVWMSI: left ventricle wall motion score index

mPTP: pori di transizione di permeabilità della membrana mitocondriale

PCI: intervento coronarico percutaneo

po: per os

PTCA: angioplastica coronarica percutanea

RMN: risonanza magnetica nucleare

STEMI: infarto miocardico acuto con sopraslivellamento del tratto ST

TnI: troponina I

UTIC: unità di terapia intensiva cardiovascolare

VS: ventricolo sinistro

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. McGovern PG, Pankow JS, Shahar E, et al. Recent trials in acute coronary disease: mortality, morbidity, medical care and risk factors: the Minnesota Heart Survey Investigators. *N Engl J Med*. 1996;334:884–890.
2. Gibson CM. Time is myocardium and time is outcomes. *Circulation*. 2001;104:2632-2634.
3. Gibbons RJ, Valeti US, Araoz PA, et al. The quantification of infarct size. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1533–1542.
4. Burns RJ, Gibbons RJ, Yi Q, et al. CORE Study Investigators. The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following acute myocardial infarction treated by thrombolysis. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:30–36.
5. Antman EM, Braunwald E. ST-elevation myocardial infarction: pathology, pathophysiology, and clinical features. Pg 1151. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E (eds). *Braunwald's Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine*. 2005. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.
6. Forrester JS, Wyatt HL, Daluz PL, et al. Functional significance of regional ischemic contraction abnormalities. *Circulation*. 1976;54:64-70.
7. Hochman JS. Cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: expanding the paradigm. *Circulation*. 2003;107:2998-3002.
8. Braunwald E, Kim CB. Late establishment of patency of the infarct-related artery. In: Julian D, Braunwald E (eds). *Acute myocardial infarction*. 1994. London: WB Saunders.
9. van Domburg RT, Sonnenschein K, Nieuwlaet R, et al. Sustained benefit 20 years after reperfusion therapy in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2005;54:15–20.
10. Boersma E, Maas AC, Deckers JW, et al. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet*. 1996;348:771–775.

11. Weaver WD, Simes RJ, Betriu A, et al. Comparison of primary coronary angioplasty and intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: A quantitative review. *JAMA*. 1997;278:2093-2098.
12. Widimsky P, Groch L, Zelizko M, et al. Multicentre randomized trial comparing transport to primary angioplasty vs immediate thrombolysis vs combined strategy for patients with acute myocardial infarction presenting to a community hospital without a catheterization laboratory. The PRAGUE study. *Eur Heart J*. 2000;21:823-831.
13. Widimsky P, Budesinsky T, Vorac D, et al. Long distance transport for primary angioplasty vs immediate thrombolysis in acute myocardial infarction. Final results of the randomized national multicentre trial – PRAGUE2. *Eur Heart J*. 2003;24:94-104.
14. Grines CL, Westerhausen DR Jr, Grines LL, et al. A randomized trial of transfer for primary angioplasty versus on-site thrombolysis in patients with high-risk myocardial infarction: The Air Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Study. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:1713-1719.
15. Moon JC, Kalra PR, Coats AJ. DANAMI2 Is primary angioplasty superior to thrombolysis in acute MI when the patient has to be transferred to an invasive centre? *Int J Cardiol*. 2002;85:199-201.
16. Grines CL, Cox DA, Stone GW, et al. Coronary angioplasty with or without stent implantation for acute myocardial infarction. Stent Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group. *N Engl J Med*. 1999;341:1949-1956.
17. Stone GW, Grines CL, Cox DA, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2002;346:957-966.
18. Antman EM. ST-elevation myocardial infarction management. Pg 1172. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E (eds). *Braunwald's Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine*. 2005. 7th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.
19. DeFily DV and Chilian WM. Preconditioning protects coronary arteriolar endothelium from ischemi-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1993;265:H700–H706.

-
20. Nakamura M, Wang NP, Zhao ZQ, et al. Preconditioning decreases Bax expression, PMN accumulation and apoptosis in reperfused rat heart. *Cardiovasc Res.* 2000;45:661–670.
 21. Thourani VH, Nakamura M, Duarte I G, et al. Ischemic preconditioning attenuates postischemic coronary artery endothelial dysfunction in a model of minimally invasive direct coronary artery bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999;117:383–389.
 22. Hoole SP, Heck PM, Sharples L, et al. Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stent (CRISP Stent) study: a prospective randomized control trial. *Circulation.* 2009;119:820-827.
 23. Kloner RA. Clinical application of remote ischemic preconditioning. *Circulation.* 2009;119:776-778.
 24. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H579–H588.
 25. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, et al. Postconditioning: a form of modified reperfusion protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res.* 2004;95:230–232.
 26. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res.* 2004;62:74–85.
 27. Yang XM, Proctor JB, Cui L, et al. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:1103–1110.
 28. Heusch G. Postconditioning: old wine in a new bottle? *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:1111–1112.
 29. Heusch G, Büchert A, Feldhaus S, et al. No loss of cardioprotection by postconditioning in connexin 43-deficient mice. *Basic Res Cardiol.* 2006;101:354–356.
 30. Staat P, Gilles R, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005;112:2143-2148.

31. Darling CE, Solari PB, Smith CS, et al. Postconditioning the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection. *Basic Res Cardiol*. 2007;102:274–278.
32. Rentoukas I, Giannopoulos G, Kaoukis A, et al. Cardioprotective role of remote ischemic perconditioning in primary percutaneous coronary intervention: enhancement by opioid action. *J Am Coll Cardiol Interv*. 2010;3:49-55.
33. Vinten-Johansen J, Yellon DM, Opie LH. Postconditioning: a simple, clinically applicable procedure to improve revascularization in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2005;112:2085-2088.
34. Thibault H, Piot C, Staat P, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation*. 2008;117:1037-1044.
35. Yetgin T, Manintveld OC, Duncker DJ, et al. Postconditioning against ischaemia-reperfusion injury: ready for wide application in patients? *Neth Heart J*. 2010;18:389-392.
36. Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2005;65:361-367.
37. Penna C, Perrelli MG, Tullio F, et al. Post-ischemic early acidosis in cardiac postconditioning modifies the activity of antioxidant enzymes, reduces nitration, and favors protein S nitrosylation. *Eur J Physiol*. 2011;462:219-233.
38. Okorie MI, Bhavsar DD, Ridout D, et al. Postconditioning protects against human endothelial ischaemia-reperfusion injury via subtype-specific KATP channel activation and is mimicked by inhibition of the mitochondrial permeability transition pore. *Eur Heart J*. 2011;32:1266-1274.
39. Freixa X, Bellera N, Ortiz-Pérez JT, et al. Ischaemic postconditioning revisited: lack of effects on infarction size following primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2012;33:103-112.
40. Sörensson P, Saleh N, Bouvier F, et al. Effect of postconditioning on infarct size in patients with ST elevation myocardial infarction. *Heart*. 2010;96:1710-1715.
41. Ma X, Zhang X, Li C, et al. Effect of postconditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function and LV recovery after myocardial infarction. *J Interv Cardiol*. 2006;19:367-375.

-
42. Laskey WK, Yoon S, Calzada N, et al. Concordant improvements in coronary flow reserve and ST-segment resolution during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a benefit of postconditioning. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2008;72:212-220.
 43. Zhao WS, Xu L, Wang LF, et al. A 60-s postconditioning protocol by percutaneous coronary intervention inhibits myocardial apoptosis in patients with acute myocardial infarction. *Apoptosis.* 2009;14:1204-1211.
 44. Zhu HL, Wei X, Qu SL. Ischemic postconditioning protects cardiomyocytes against ischemia/reperfusion injury by inducing MIP2. *Exp Mol Med.* 2011;43:437-445.
 45. van Vuuren D, Lochner A. Ischaemic postconditioning: from bench to bedside ...*Cardiovasc J Afr.* 2008;19:311–320.
 46. Lin XM, Zhang ZY, Wang LF, et al. Attenuation of tumor necrosis factor- α elevation and improved heart function by postconditioning for 60 seconds in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J.* 2010;123:1833-1839.
 47. Lønborg J, Kelbæk H, Vejstrup N, et al. Cardioprotective Effects of Ischemic Postconditioning in Patients Treated With Primary Percutaneous Coronary Intervention, Evaluated by Magnetic Resonance. *Circ Cardiovasc Interv.* 2010;3:34-41.
 48. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. The pH hypothesis of postconditioning. Staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation.* 2007;115:1895-1903.
 49. Yang XC, Liu Y, Wang LF, et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol.* 2007;19:424-430.
 50. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raisky O, et al. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation.* 2005;111:194-197.
 51. Schröder R. Prognostic impact of early ST-segment resolution in acute ST-elevation myocardial infarction. *Circulation.* 2004;110:e506–e510.
 52. de Lemos JA, Antman EM, Giugliano RP, et al., on behalf of Thrombolysis In Myocardial Infarction (TIMI) 14 Investigators. ST-segment resolution and

- infarct-related artery patency and flow after thrombolytic therapy. *Am J Cardiol.* 2000;85:299–304.
53. van't Hof AW, Liem A, de Boer MJ, et al, Myocardial Infarction Study Group. Clinical value of 12-lead electrocardiogram after successful reperfusion therapy for acute myocardial infarction. *Lancet.* 1997;350:615–9.
54. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography: American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr.* 1989;2:358–367.
55. Cohen MV, Yang XM, Neumann T, et al. Favorable remodeling enhances recovery of regional myocardial function in the weeks after infarction in ischemically preconditioned hearts. *Circulation.* 2000;102:579–583.
56. Gomez L, Thibault HB, Gharib A, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition improves functional recovery and reduces mortality following acute myocardial infarction in mice. *Am J Physiol.* 2007;293:H1654–H1661.
57. Mewton N, Ivanès F, Cour M, et al. Postconditioning: from experimental proof to clinical concept. *Dis Model Mech.* 2010;3:39–44.
58. Kloner RA. Does reperfusion injury exist in humans? *J Am Coll Cardiol.* 1993;21:537–545.
59. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part2. *Circulation.* 2001;104:3158–3167.
60. Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radicals generated following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987;84:1404–1407.
61. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, et al. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation.* 1990;82:1402–1412.
62. Piper HM, Schafer AC. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovasc Res.* 2004;61:365–371.
63. Gateau-Roesch O, Argaud L, Ovize M. Mitochondrial permeability transition pore and postconditioning. *Cardiovasc Res.* 2006;70:264–273.

-
64. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J.* 1995;307:93–98.
 65. Roe MT, Ohman EM, Moas AC, et al. Shifting the open-artery hypothesis downstream: the quest for optimal reperfusion. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:9–18.
 66. Rezkalla SH, Kloner RA. No-reflow phenomenon. *Circulation.* 2002;105:656–662.
 67. Verma S, Fedak PW, Weisel RD, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002;105:2332–2336.
 68. Okamoto F, Allen BS, Buckberg GD, et al. Reperfusion conditions: importance of ensuring gentle versus sudden reperfusion during relief of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1986;92:613–620.
 69. Andreka G, Vertesaljai M, Szantho G, et al. Remote ischaemic postconditioning protects the heart during acute myocardial infarction in pigs. *Heart.* 2007;93:749–752.
 70. Bonnefoy E, Lapostolle F, Leizorovicz A, et al. Comparison of Angioplasty and Prehospital Thrombolysis in Acute Myocardial Infarction Study Group. Primary angioplasty versus prehospital fibrinolysis in acute myocardial infarction: a randomized study. *Lancet.* 2002;360:825–829.
 71. Granger CB, Mahaffey KW, Weaver WD, et al. COMMA Investigators. Pexelizumab, an anti-C5 complement antibody, as adjunctive therapy to primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: the COMplement inhibition in Myocardial infarction treated with Angioplasty (COMMA) trial. *Circulation.* 2003;108:1184–1190.
 72. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, et al. AMISTAD-II Investigators. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1775–1780.
 73. O'Neill WW, Martin JL, Dixon SR, et al. AMIHOT Investigators. Acute Myocardial Infarction with Hyperoxemic Therapy (AMIHOT): a prospective,

- randomized trial of intracoronary hyperoxemic reperfusion after percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:397–405.
74. Poli A, Fetiveau R, Vandoni P, et al. Integrated analysis of myocardial blush and ST-segment elevation recovery after successful primary angioplasty real-time grading of microvascular reperfusion and prediction of early and late recovery of left ventricular function. *Circulation*. 2002;106:313–318.
75. van't Hof AWJ , Liem A, Suryapranata H, et al. Myocardial Infarction Study Group. Angiographic assessment of myocardial reperfusion in patients treated with primary angioplasty for acute myocardial infarction: myocardial blush grade. *Circulation*. 1998;97:2302–2306.